

**PROTEASE INHIBITOR****Publication number:** JP11240842**Publication date:** 1999-09-07**Inventor:** ITO AKIRA; YOSHIDA YUZO**Applicant:** SHISEIDO CO LTD**Classification:**

**- International:** A61K8/96; A61K8/00; A61K8/97; A61K36/00;  
A61K36/18; A61P7/04; A61P17/00; A61P43/00;  
A61Q19/00; A61K8/96; A61K8/00; A61K36/00;  
A61K36/18; A61P7/00; A61P17/00; A61P43/00;  
A61Q19/00; (IPC1-7): A61K35/78; A61K7/00; A61K7/48;  
A61K35/78

**- European:****Application number:** JP19980058905 19980224**Priority number(s):** JP19980058905 19980224[Report a data error here](#)**Abstract of JP11240842**

**PROBLEM TO BE SOLVED:** To obtain a protease inhibitor manifesting excellent activities for improvement and prevention of not only contact dermatitis having an observed activity change in plasmin, psoriasis, pemphigus vulgaris, congenital chicken pox or the like, and various skin diseases accompanying rough skin, but also the rough skin and chap skin or the like of a normal subject.

**SOLUTION:** This protease inhibitor contains a solvent extract of a plant belonging to the genus Vitis of the family Vitaceae, especially leaves of grapes as an active ingredient. The formulated proportion of the solvent extract of the plant belonging to the genus Vitis is 0.005-20.0 wt. %.

---

Data supplied from the **esp@cenet** database - Worldwide

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公開特許公報 (A)

(11) 特許出願公開番号

特開平11-240842

(43) 公開日 平成11年(1999) 9月7日

(51) Int.Cl.<sup>6</sup>

A 6 1 K 35/78

識別記号

A E D

A C A

A D A

F I

A 6 1 K 35/78

A E D C

A C A

A D A

7/00

7/00

K

W

審査請求 未請求 請求項の数 4 F D (全 7 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号

特願平10-58905

(22) 出願日

平成10年(1998) 2月24日

(71) 出願人 000001959

株式会社資生堂

東京都中央区銀座7丁目5番5号

(72) 発明者 伊藤 明

神奈川県横浜市港北区新羽町1050番地 株式会社資生堂第一リサーチセンター内

(72) 発明者 吉田 雄三

神奈川県横浜市港北区新羽町1050番地 株式会社資生堂第一リサーチセンター内

(74) 代理人 弁理士 館野 千恵子

(54) 【発明の名称】 プロテアーゼ阻害剤

(57) 【要約】

【課題】 プラスミンの活性変化が認められる接触性皮膚炎、乾癬、尋常性天疱瘡、先天性水疱瘡等や肌荒れを伴う種々の皮膚疾患の他、健常人の肌荒れ、荒れ性等の改善・予防に優れた効果を有するプロテアーゼ阻害剤を提供する。

【解決手段】 ブドウ科 (Vitaceae) ブドウ属 (Vitis) に属する植物、特にブドウ葉の溶媒抽出物を有効成分とする。

## 【特許請求の範囲】

【請求項1】 ブドウ科 (Vitaceae) ブドウ属 (Vitis) に属する植物の溶媒抽出物を有効成分とすることを特徴とするプロテアーゼ阻害剤。

【請求項2】 ブドウ科 (Vitaceae) ブドウ属 (Vitis) に属する植物の葉の溶媒抽出物である請求項1記載のプロテアーゼ阻害剤。

【請求項3】 ブドウ属に属する植物の溶媒抽出物の配合量が0.005~20.0重量%である請求項1または2記載のプロテアーゼ阻害剤。

【請求項4】 ブドウ科 (Vitaceae) ブドウ属 (Vitis) に属する植物の溶媒抽出物を有効成分とすることを特徴とする抗プラスミン剤。

## 【発明の詳細な説明】

## 【0001】

【発明の属する技術分野】本発明はプロテアーゼ阻害剤に関し、さらに詳しくは、患部においてセリンプロテアーゼ、特にプラスミンの活性変化が認められる接触性皮膚炎、乾癬、尋常性天疱瘡、先天性水疱瘡等の種々の皮膚疾患の他、乾燥や洗浄剤等によって惹起される肌荒れ、荒れ性に対して改善、予防効果を有し、また止血剤としても利用可能なプロテアーゼ阻害剤に関する。

## 【0002】

【従来の技術および発明が解決しようとする課題】従来より、皮膚疾患や肌荒れに対して改善・予防効果を有するものとして種々の治療薬、皮膚外用剤、化粧品等が知られている。これら従来の薬剤や化粧品等における有効成分としては、抗炎症作用を有する、あるいは保湿効果の高いアミノ酸や多糖、脂質、抽出エキス等が、皮膚の炎症や角質層の水分の消失を防ぐ能力に優れているために用いられてきた。しかしながらいずれにおいてもその肌荒れ改善・予防効果は必ずしもすべての事例において十分であるとはいえず、疾患の原因に応じてより優れた薬効剤の開発が期待されていた。

【0003】一方、近年種々の皮膚疾患の病像形成にはプラスミンが関与していることが明らかにされつつある。例えば炎症性異常角化性疾患の代表である乾癬では、その患部表皮において高いプラスミノゲンアクチベーター (Plasminogen activator: PA) 活性が認められている。PAはプラスミノゲンに特異的に働いてそれを活性なプラスミンに変換する因子で、この因子の代表例の1つにセリンプロテアーゼ等のプロテアーゼが挙げられる。このPA活性と皮膚疾患との関係については、例えば、乾癬表皮の特に錯角化部位に強いPA活性が存在することの報告 (Haustein: Arch. Klin. Exp. Dermatol; 234, 1969) や、乾癬鱗屑から高濃度の塩溶液を用いてPAを抽出したという報告 (Fraki, Hopsu-Havu: Arch. Dermatol. Res; 256, 1976) がなされている。また、尋常性天疱瘡においては表皮細胞内で多量に合成されたPAが、細胞外に存在するプラスミノゲンをプラスミンに

転換し、これが細胞間結合物質を消化することにより細胞間に組織液が貯留して表皮内水疱が形成されることが、in vitroの実験系において明らかにされている (Morio S.: J. Invest. Dermatol; 76, 1981)。

【0004】またプラスミンは、角質層形成など表皮の正常な角化過程においても重要な役割を果たしていると考えられており (Ogawa H., Yoshiike T.: Int. J. Dermatol; 23, 1984)、肌改善あるいは皮膚疾患の治療薬として、抗プラスミン剤を用いる試みがなされるようになってきている。

## 【0005】

【課題を解決するための手段】上述のような現況に鑑み、本発明者らはプラスミン活性阻害物質が種々の皮膚疾患、肌荒れ、荒れ性等の改善に有効であると考え、広く種々の物質について抗プラスミン活性を調べた結果、ブドウ科ブドウ属に属する植物の抽出物が優れた抗プラスミン活性を有していることを見出し、これに基づき本発明を完成するに至った。

【0006】すなわち本発明は、ブドウ科 (Vitaceae) ブドウ属 (Vitis) に属する植物の溶媒抽出物を有効成分とすることを特徴とするプロテアーゼ阻害剤、およびブドウ科 (Vitaceae) ブドウ属 (Vitis) に属する植物の溶媒抽出物を有効成分とすることを特徴とする抗プラスミン剤である。

【0007】ブドウ科ブドウ属に属する植物またはその抽出物に関しては、乳化剤、顔料、色素分散剤、毛髪処理剤、あるいは抗菌性組成物として化粧品原料に用いることは知られているが (特開昭60-246305号公報、特開平2-286609号公報)、皮膚疾患の病像形成とプラスミン活性の変化に着目した当該植物抽出物のプロテアーゼ阻害活性についての報告は、本発明者らが知る限りにおいてこれまでにない。

【0008】以下、本発明について詳述する。本発明に用いられるブドウ科 (Vitaceae) ブドウ属 (Vitis) の植物は、木本性のつる植物で、暖温帯から温帯にかけて約70種が知られており、例えば、V. labrusca L. (和名: アメリカブドウ)、V. vinifera L. (和名: ヨーロッパブドウ)、V. coignetiae P. (和名: ヤマブドウ)、V. amurensis R. (和名: チョウセンヤマブドウ) 等がある。

【0009】本発明に用いられる植物抽出物は、上記植物の根、葉、樹皮、茎、果実、植物全草等を抽出溶媒と共に浸漬または加熱還流した後、濾過し、濃縮して得られるが、特にブドウの葉の抽出物が好ましい。抽出溶媒としては、通常抽出に用いられる溶媒であれば任意に用いることができ、例えば、メタノール、エタノール等のアルコール類、含水アルコール、アセトン、酢酸エチルエステル等の有機溶媒を、単独あるいは組み合わせで用いることができる。また、抽出物を上記の溶媒を用い、分配あるいはクロマトグラフィーのごとき精製等の処理

を加えて、得られたものを用いることもできる。

【0010】本発明のプロテアーゼ阻害剤は主として外用剤として用いられ、その場合の配合量は、外用剤全量中、乾燥物として0.005～20.0重量%、好ましくは0.01～10.0重量%である。0.005重量%未満であると、本発明でいう効果が十分に発揮されず、20.0重量%を超えると製剤化が難しいので好ましくない。また、10.0重量%以上配合してもさほど大きな効果の向上はみられない。

【0011】本発明のプロテアーゼ阻害剤には、上記必須成分以外に、通常化粧品や医薬品等の皮膚外用剤に用いられる成分、例えば、美白剤、保湿剤、酸化防止剤、油性成分、紫外線吸収剤、界面活性剤、増粘剤、アルコール類、粉末成分、色材、水性成分、水、各種皮膚栄養剤等を必要に応じて適宜配合することができる。

【0012】その他、エデト酸二ナトリウム、エデト酸三ナトリウム、クエン酸ナトリウム、ポリリン酸ナトリウム、メタリン酸ナトリウム、グルコン酸等の金属封鎖剤、カフェイン、タンニン、ペラバミル、トラネキサム酸およびその誘導体、甘草抽出物、グラブリジン、火棘の果実の熱水抽出物、各種生薬、酢酸トコフェロール、グリチルリチン酸およびその誘導体またはその塩等の薬剤、ビタミンC、アスコルビン酸リン酸マグネシウム、アスコルビン酸グルコシド、アルブチン、コウジ酸等の美白剤、グルコース、フルクトース、マンノース、ショ糖、トレハロース等の糖類なども適宜配合することができる。

【0013】本発明のプロテアーゼ阻害剤とは、例えば軟膏、クリーム、乳液、ローション、パック、浴用剤等、従来皮膚外用剤に用いるものであればいずれでもよく、剤型は特に問わない。

【0014】

【実施例】以下に実施例によって本発明をさらに詳細に説明する。なお、本発明はこれにより限定されるものではない。配合量は重量%である。実施例に先立ち、本発明の植物抽出物の抗プラスミン活性および肌改善効果に

関する試験方法及びその評価基準について説明する。

【0015】1. 抗プラスミン試験

(1) 試料の調製

*V. labrusca* L. (和名：アメリカブドウ)の葉50g (乾燥重量)を室温で1週間、5倍量のエタノールに浸漬し、抽出液を濃縮乾固した。この固形物をジメチルスルホキシド(DMSO)に溶解し、3%溶液を作成した。これを用いて以下の実験を行った。

【0016】(2) 抗プラスミン活性の測定

フィブリン平板法にて阻害率(%)を求めた。すなわち1.0%のプラスミノゲン除去フィブリンノーゲンを含むペロナール緩衝液(0.125M-NaOHを含む25mMバルビタル酸ナトリウム水溶液、pH7.4)6mlを9cmφシャーレに注ぎ、そこに1.0M-CaCl<sub>2</sub>を0.2mlと25U/mlのトロンビン0.1mlを加えて静かに混和し、1時間放置した。フィブリンノーゲンがフィブリンに変化することによって形成された平板上に、5U/mlのプラスミンと被験物質を29:1の割合で混合した混合物を、37℃で10分間保温した後20μl添加し、さらに37℃で18時間放置した。対照として被験試料の替わりにDMSOを用いて同様の操作を行い、その後、フィブリンが溶解して形成された溶解円の面積を測定し、下記の数式1:

【0017】

【数1】阻害率(%) = 1 - (被験試料の溶解円面積 / 対照の溶解円面積)

【0018】によりプラスミン阻害率を求めた。結果を表1に示す。

【0019】また、参考例として、抗プラスミン作用を有するとされ、すでに肌荒れに対する適用が知られている植物であるオオバク(*Phellodendron amurense* Ruprecht)のエタノール抽出物についても上記と同様の試験を行った。その結果を併せて表1に示す。

【0020】

【表1】

試料添加濃度 阻害率(%)		
アメリカブドウ葉抽出物	0.1 %	67.2
	0.01%	33.7
オオバク抽出物	0.1 %	16.2
	0.01%	8.5

【0021】表1から分かるように、アメリカブドウ葉抽出物は、オオバク抽出物に比べ、格段に優れた抗プラスミン活性を有することがわかる。

【0022】2. 実使用試験

(1) カミソリ負けに対する改善効果試験

本発明に係るプロテアーゼ阻害剤の外皮適用による効

果を、カミソリ負けに対する改善率、ならびに皮膚刺激性から評価した。

【0023】なお試料としては、表2に示すように、本発明品としてヨーロッパブドウ(*V. vinifera* L.)の葉の50%エタノール抽出物の濃度を変えたローションを2種、比較品として、すでに肌荒れに対する適用が知られ

ているオオバクの50%エタノール抽出物を配合したローションと、ヨーロップバドゥ葉抽出物およびオオバク抽出物を除いたローションを用いた。結果を併せて表2に示す。

【0024】[カミソリ負けに対する改善率] カミソリ負けする男性パネル40名を10名ずつ4群に分け、ひげ剃り直後に表2に示す本発明品もしくは比較品を塗布し、カミソリ負けに対する効果を判定した。判定基準及び評価は以下の通りとした。

【0025】<カミソリ負けに対する改善効果の判定基準>

著効 : カミソリ負けの消失したもの。

有効 : カミソリ負けの弱くなったもの。

やや有効: カミソリ負けがやや弱くなったもの。

無効 : カミソリ負けに変化を認めないもの。

【0026】<カミソリ負けに対する改善効果の評価>

◎: 被験者が著効、有効及びやや有効を示す割合(有効率)が80%以上。

○: 被験者が著効、有効及びやや有効を示す割合(有効率)が50%以上、80%未満。

△: 被験者が著効、有効及びやや有効を示す割合(有効率)が30%以上、50%未満。

×: 被験者が著効、有効及びやや有効を示す割合(有効率)が30%未満。

【0027】[皮膚刺激性] 上記のカミソリ負けに対する改善率の判定に際し、本発明品と比較品の皮膚刺激性について判定、評価した。評価基準は以下の通りとした。

<皮膚刺激性の評価>

◎: 肌にヒリヒリ感を認めた被験者の割合が0%

○: 肌にヒリヒリ感を認めた被験者の割合が5%未満

△: 肌にヒリヒリ感を認めた被験者の割合が10%未満

×: 肌にヒリヒリ感を認めた被験者の割合が10%以上

【0028】

【表2】

試料	本発明品		比較品	
	1	2	1	2
ヨーロップバドゥ葉50%エタノール抽出物	3.0	1.0	—	—
オオバク50%エタノール抽出物	—	—	3.0	—
グリセリン	1.0	1.0	1.0	1.0
1, 3-ブチレングリコール	4.0	4.0	4.0	4.0
エタノール	7.0	7.0	7.0	7.0
ポリオキシエチレン(20モル)				
オレイルアルコール	0.5	0.5	0.5	0.5
精製水	残余	残余	残余	残余
カミソリ負け防止効果	○	○	△	×
皮膚刺激性	◎	◎	◎	◎

【0029】表2から明らかなように、ヨーロップバドゥ葉抽出物を1.0重量%以上配合した本発明品のローションは、比較品のローションよりもカミソリ負けに対して優れた改善効果を示し、さらに皮膚刺激性も認められなかった。

【0030】(2)レプリカ法による実使用試験

本発明品1, 2と比較品1, 2のローションを用いて、人体パネルで肌荒れ改善効果試験を行った。即ち、女性健常人(顔面)の皮膚表面形態をミリスン樹脂によるレプリカ法を用いて肌のレプリカを取り、顕微鏡(17倍)にて観察した。皮紋の状態及び角層の剥離状態から以下に示す判定基準に基づいて肌荒れ評価1, 2と判断されたもの(肌荒れパネル)20名を用い、顔面左右半々に、本発明品1, 2と比較品1, 2のローションを1

日1回、2週間塗布した。2週間後、再び上述のレプリカ法にしたがって肌の状態を観察し、判定基準にしたがって評価した。その結果を表3に示す。

【0031】<レプリカ判定基準>

1: 皮溝、皮丘の消失、広範囲の角層のめくれが認められる。

2: 皮溝、皮丘が不鮮明、角層のめくれが認められる。

3: 皮溝、皮丘は認められるが、平坦。

4: 皮溝、皮丘が鮮明。

5: 皮溝、皮丘が鮮明で整っている。

【0032】

【表3】

レプリカ評価	本発明品1	本発明品2	比較品1	比較品2
1	0	0	0	3
2	1	3	5	7
3	6	7	8	8
4	8	8	6	2
5	5	2	1	0

【0033】表3から判るように、本発明品のローションは比較品のローションと比較し、顕著な肌荒れ改善効果が認められた。

【0034】以下に、種々の剤型の本発明によるプロテアーゼ阻害剤の配合例を実施例として説明する。

#### 【0035】実施例1 クリーム

(処方)	重量%
ステアリン酸	5.0
ステアリルアルコール	4.0
イソプロピルミリステート	18.0
グリセリンモノステアリン酸エステル	3.0
プロピレングリコール	10.0
ヤマブドウ葉エタノール抽出物	0.05

#### 実施例2 クリーム

(処方)	重量%
ステアリン酸	2.0
ステアリルアルコール	7.0
水添ラノリン	2.0
スクワラン	5.0
2-オクチルドデシルアルコール	6.0
ポリオキシエチレン(25モル)	
セチルアルコールエーテル	3.0
グリセリンモノステアリン酸エステル	2.0
プロピレングリコール	5.0
チョウセンヤマブドウ葉メタノール抽出物	0.1
トラネキサム酸	0.2
亜硫酸水素ナトリウム	0.03
エチルパラベン	0.3
香料	適量
イオン交換水	残余

(製法) イオン交換水にプロピレングリコールを加え、加熱して70℃に保つ(水相)。他の成分を混合し加熱融解して70℃に保つ(油相)。水相に油相を加え予備

#### 実施例3 クリーム

(処方)	重量%
固形パラフィン	5.0
ミツロウ	10.0
ワセリン	15.0
流動パラフィン	41.0
グリセリンモノステアリン酸エステル	2.0
ポリオキシエチレン(20モル)	
ソルビタンモノラウリル酸エステル	2.0

苛性カリ	0.2
亜硫酸水素ナトリウム	0.01
防腐剤	適量
香料	適量
イオン交換水	残余

(製法) イオン交換水にプロピレングリコールとヤマブドウ葉エタノール抽出物と苛性カリを加え溶解し、加熱して70℃に保つ(水相)。他の成分を混合し加熱融解して70℃に保つ(油相)。水相に油相を徐々に加え、全部加え終わってからしばらくその温度に保ち反応を起こさせる。その後、ホモキサーで均一に乳化し、よくかきまぜながら30℃まで冷却する。

#### 【0036】

乳化を行い、ホモキサーで均一に乳化した後、よくかきまぜながら30℃まで冷却する。

#### 【0037】

石けん粉末	0.1
硼砂	0.2
アメリカブドウ葉70%メタノール抽出物	0.3
亜硫酸水素ナトリウム	0.03
エチルパラベン	0.3
香料	適量
イオン交換水	残余

(製法) イオン交換水に石けん粉末と硼砂を加え、加熱して70℃に保つ(水相)。他の成分を混合し加熱融解して70℃に保つ(油相)。水相に油相をかきまぜながら

徐々に加え反応を行なう。その後、ホモキサーで均一に乳化し、よくかきまぜながら30℃まで冷却する。

【0038】

#### 実施例4 乳液

(処方)	重量%
ステアリン酸	2.5
セチルアルコール	1.5
ワセリン	5.0
流動パラフィン	10.0
ポリオキシエチレン(10モル)	
モノオレイン酸エステル	2.0
ポリエチレングリコール1500	3.0
トリエタノールアミン	1.0
カルボキシビニルポリマー	0.05
(商品名: カーボポール941, B.F. Goodrich Chemical company)	
ヨーロッパブドウ葉酢酸エチル抽出物	0.02
亜硫酸水素ナトリウム	0.01
エチルパラベン	0.3
香料	適量
イオン交換水	残余

(製法) 少量のイオン交換水にカルボキシビニルポリマーを溶解する(A相)。残りのイオン交換水にポリエチレングリコール1500とトリエタノールアミンを加え、加熱溶解した70℃に保つ(水相)。他の成分を混合し加熱融解して70℃に保つ(油相)。水相に油相を

加え予備乳化を行い、A相を加えホモキサーで均一に乳化し、乳化後よくかきまぜながら30℃まで冷却する。

【0039】

#### 実施例5 乳液

(処方)	重量%
マイクロクリスタリンワックス	1.0
ミツロウ	2.0
ラノリン	20.0
流動パラフィン	10.0
スクワラン	5.0
ソルビタンセスキオレイン酸エステル	4.0
ポリオキシエチレン(20モル)	
ソルビタンモノオレイン酸エステル	1.0
プロピレングリコール	7.0
ヤマブドウ葉30%ブタノール抽出物	2.0
トラネキサム酸	1.0
亜硫酸水素ナトリウム	0.01
エチルパラベン	0.3
香料	適量
イオン交換水	残余

(製法) イオン交換水にプロピレングリコールを加え、

加熱して70℃に保つ(水相)。他の成分を混合し加熱

融解して70℃に保つ(油相)。油相をかきまぜながら水相を徐々に加え、ホモキサーで均一に乳化した後、

よくかきまぜながら30℃まで冷却する。

【0040】

#### 実施例6 ゼリー

(処方)

重量%

95%エチルアルコール

10.0

ジプロピレングリコール

15.0

ポリオキシエチレン(50モル)

オレイルアルコールエーテル

2.0

カルボキシビニルポリマー

0.05

(商品名: カーボボール940, B.F. Goodrich Chemical company)

苛性ソーダ

0.15

Ｌ-アルギニン

0.1

アメリカブドウ葉30%エタノール抽出物

1.0

亜硫酸水素ナトリウム

0.01

エチルパラベン

0.3

香料

適量

イオン交換水

残余

(製法) イオン交換水にカーボボール940を均一に溶解し、一方、95%エタノールにアメリカブドウ葉抽出物、ポリオキシエチレン(50モル)オレイルアルコールエーテルを溶解し、水相に添加する。次いで、その他

の成分を加えた後苛性ソーダ、Ｌ-アルギニンで中和させ増粘する。

【0041】

#### 実施例7 パック

(処方)

重量%

(A相)

ジプロピレングリコール

5.0

ポリオキシエチレン(60モル)硬化ヒマシ油

5.0

(B相)

オリーブ油

5.0

酢酸トコフェロール

0.2

エチルパラベン

0.2

香料

0.2

(C相)

亜硫酸水素ナトリウム

0.03

ポリビニルアルコール(けん化度90、重合度2,000)

13.0

エチルアルコール

7.0

ヤマブドウ葉50% 1,3-ブチレングリコール抽出物

10.0

精製水

残余

(製法) A相、B相をそれぞれ均一に溶解し、A相にB相を加えて可溶化する。次いでブドウ葉抽出物を分散させたC相をこれに加えた後充填を行なう。

【0042】

【発明の効果】以上説明したように、本発明によれば、

プラスミンの活性変化が認められる接触性皮膚炎、乾癬、尋常性天疱瘡、先天性水疱瘡等や肌荒れを伴う種々の皮膚疾患の他、健常人の肌荒れ、荒れ性等の改善・予防に優れた効果を有するプロテアーゼ阻害剤を提供することができる。

フロントページの続き

(51)Int. Cl.<sup>6</sup>

A61K 7/48

識別記号

FI

A61K 7/48